

Rapid liquid chromatographic substance separation and identification, e.g. of pharmaceutically active materials, comprises software controlled two-stage separation

Publication number: DE19847439 (A1)

Publication date: 2000-04-20

Inventor(s): MUELLER-KUHRT LUTZ [DE]; GUMM HOLGER [DE];
NOTZKE HOLGER [DE]; GOD RALF [DE]

Applicant(s): ANALYTICON AG BIOTECHNOLOGIE P [DE]

Classification:

- international: **B01D15/08; G01N30/46; G01N30/02; G01N30/88;
B01D15/08; G01N30/00; (IPC1-7): G01N21/35; G01N21/47;
G01N21/59; G01N21/64; G01N24/08; B01D15/08; G01N30/00;
G01N30/62**

- European: G01N30/46A; B01D15/08

Application number: DE19981047439 19981008

Priority number(s): DE19981047439 19981008

Also published as:

DE19847439 (C2)

JP2002527748 (T)

EP1119767 (A1)

WO0022429 (A1)

CA2346358 (A1)

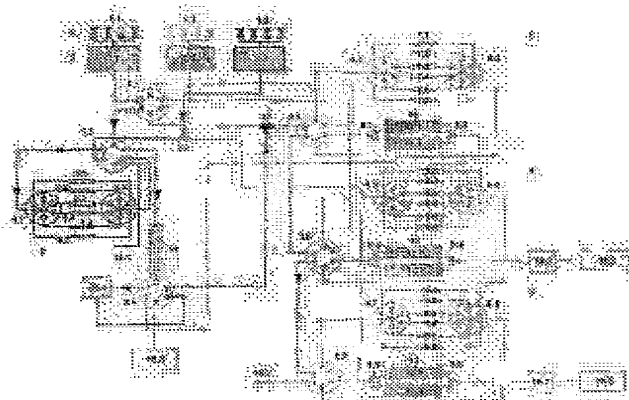
more >>

Cited documents:

DE19641210 (A1)

Abstract of DE 19847439 (A1)

Rapid liquid chromatographic substance separation and identification comprises software controlled two-stage separation using a second parallel fine separation, identification and isolation stage. Rapid liquid chromatographic separation and identification of substances is performed by software controlled two-stage separation comprising a first stage of initially separating a substance mixture and a second stage using two or more separation lines for parallel fine separation of the separated fractions and parallel identification and isolation of the finely separated fractions. An Independent claim is also included for an apparatus for carrying out the above process, comprising a separation column (10) with several parallel liquid chromatographic separation lines.; Each line comprises a combination of separation column batteries (11-13) with collector column batteries (7-9), detector units (14) and fraction collector units (15.1,15.2,15.3). A pump unit (2), with three pumps (2.1, 2.2, 2.3) used for transporting the mobile phase, is connected to the separation column (10) and to the separation lines and software operated multi-way valves are positioned between the individual functional units. Preferred Features: The first separation stage involves initial separation of successive substances and the second stage involves successive and/or parallel fine separation of substances. A detector (14.1,14.2,14.3) is provided after each separation stage and a multi-way valve (3.5,3.6,3.7) is provided before each separation line, further separation columns being positioned downstream of the separation lines.





①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 47 439 A 1**

⑲ Aktenzeichen: 198 47 439.3
⑳ Anmeldetag: 8. 10. 1998
㉑ Offenlegungstag: 20. 4. 2000

⑤ Int. Cl. 7:
B 01 D 15/08
G 01 N 30/00
G 01 N 30/62
// G 01 N 24/08, 21/64,
21/35, 21/47, 21/59

3/4
DE 198 47 439 A 1

⑦ Anmelder:
AnalytiCon AG Biotechnologie-Pharmazie, 10589
Berlin, DE

⑦A Vertreter:
Patentanwälte Gulde Hengelhaupt Ziebig, 10117
Berlin

⑦Z Erfinder:
Müller-Kuhrt, Lutz, Dr., 14089 Berlin, DE; Gumm,
Holger, 13503 Berlin, DE; Notzke, Holger, 13591
Berlin, DE; God, Ralf, Dr., 14167 Berlin, DE

⑤B Entgegenhaltungen:
DE 196 41 210 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

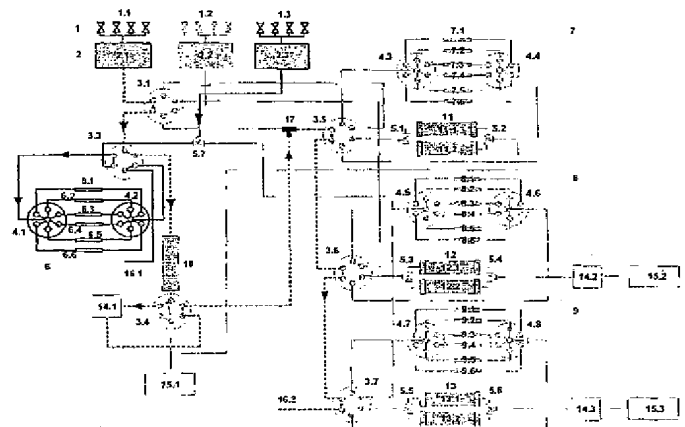
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤A Verfahren und Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen

⑤B Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren und eine Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung, Isolierung und Identifizierung von Substanzen im analytischen und semipräparativen Bereich anzubieten, mit denen sich ein Test auf Wirkung von Substanzgemischen erübrigt und es schneller als bisher möglich ist, Substanzgemische aufzutrennen, die Einzelsubstanzen zu isolieren und zu identifizieren.

Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit einem Verfahren und einer Vorrichtung, bei denen Substanzgemische in einer softwaregesteuerten schnellen flüssigchromatographischen Zweistufentrennung in der ersten Stufe vorge trennt und in der zweiten Stufe die vorgetrennten und in Auffangssäulen abgelegten Fraktionen in mindestens zwei Trennlinien parallel fein aufgetrennt, die fein aufgetrennten Fraktionen parallel identifiziert und parallel isoliert werden (Fig. 1).



FPOU-0282
-00EP-SC
'09.11.24
S R

DE 198 47 439 A 1

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren und eine Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen gemäß den Oberbegriffen der Ansprüche 1 und 5.

Beispielsweise steht in der pharmazeutischen Forschung häufig das Problem aus Substanzgemischen pharmazeutisch aktive Stoffe zu isolieren. So werden Naturstoffextrakte oder auch durch kombinatorische Chemie erzeugte Substanzgemische auf eine mögliche Wirksamkeit getestet. Aus Substanzgemischen die eine Wirksamkeit gezeigt haben, wird dann versucht die wirksamen Substanzen mit Hilfe von aufwendigen Trennverfahren zu isolieren. Danach werden die so isolierten Einzelsubstanzen des Gemisches einem erneuten Wirkungstest unterzogen. Die nun gefundenen wirksamen Einzelsubstanzen werden auf ihre Struktur hin untersucht, um möglicherweise bereits bekannte Wirkstoffe auszuschließen. Ein Nachteil dieses Verfahrens ist, daß bei dem Test der Substanzgemische durch Überlagerungseffekte die Wirksamkeit von Einzelsubstanzen unterdrückt werden kann und diese so unerkant bleiben. Ein weiterer Nachteil ist, daß durch Überlagerungseffekte eine Wirksamkeit vorgetauscht werden kann und anschließend kostenintensiv vergeblich nach diesen vermeintlichen Wirkstoffen im Substanzgemisch gesucht wird. Schließlich erfolgt nachteiligerweise der Ausschluß bereits bekannter Substanzen erst nach der Durchführung von mindestens zwei Tests auf biologische Wirksamkeit und nach aufwendigen Isolationsverfahren, was sehr kostspielig ist. Zur Durchführung dieser Tests sind in der Regel große Substanzmengen nötig, d. h., daß Trennungen im präparativen Maßstab zu erfolgen haben. Präparative Anlagen sind aber von den Investitionskosten her teurer als analytische Anlagen. Ebenso verbrauchen präparative Anlagen zur Trennung erheblich mehr Lösungsmittel und Puffersubstanzen, was ihren Betrieb teuer macht und zusätzlich größere Entsorgungsprobleme und Umweltbelastungen hervorruft.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung, Isolierung und Identifizierung von Substanzen im analytischen und semipräparativen Bereich anzubieten, mit denen sich ein Test auf Wirkung von Substanzgemischen erübrigt und es schneller als bisher möglich ist Substanzgemische aufzutrennen, die Einzelsubstanzen zu isolieren und zu identifizieren.

Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit den kennzeichnenden Teilen der Ansprüche 1 und 5.

Vorteilhafte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen angegeben.

Die Erfindung weist verschiedene Vorteile auf. Die Substanzen müssen nicht mehr doppelt, nämlich vorher im Substanzgemisch und nach der Isolierung getestet werden. Erfindungsgemäß kann der aufwendige und kostspielige und zum Teil fehlerbehaftete erste Wirkungstest der Substanzgemische entfallen. Statt dessen werden nach der kombinierten Isolierung und Identifikation nur potentiell neue Wirksubstanzen weiteren Tests unterzogen. Die bisher übliche kostspielige Bearbeitung bereits bekannter Substanzen entfällt. Der Zeit- und Kostenaufwand für die Ermittlung einer neuen Wirksubstanz kann erheblich reduziert werden. Zusätzlich ist diese Verfahrensweise sicherer, denn die Testergebnisse an unbekannten Einzelsubstanzen sind eindeutig und alle im Gemisch vorhandenen Wirksubstanzen werden auch erfaßt.

Die zu untersuchenden Substanzgemische werden in einer zweistufigen Trennung bearbeitet, dabei können durch

die erfindungsgemäße Verschaltung von Trennsäulen und Festphasenextraktionssäulen (Auffangssäulen) mit der Pumpeneinheit in der zweiten chromatographischen Trennstufe mehrere Fraktionen aus dem ersten Trennungsschritt parallel getrennt werden. Somit arbeitet diese Vorrichtung erheblich schneller und damit kostengünstiger als bekannte zweistufige Vorrichtungen.

Die Identifikation der Einzelsubstanzen erfolgt durch an sich bekannten direkten computergesteuerten Vergleich der von Detektoren gewonnenen Chromatogrammen und Spektren sowie des Retentionsbereiches aus dem ersten Trennschritt und der Retentionszeit aus dem zweiten Trennschritt mit Informationen über bekannte Substanzen in einer Datenbank. Als Detektions- und Identifikationsprinzipien sind Ultraviolett-Absorption, Massenspektrometrie, Lichtstreuung, Fluoreszenz, Infrarotspektroskopie und Kernspinresonanzspektroskopie möglich. Die Einbeziehung weiterer Identifizierungsparameter wie z. B. Quelle und Herkunft der Probe ist möglich. Da weniger Tests zur Identifizierung der Substanzen im Gemisch und zum Ausschluß bereits bekannter Substanzen notwendig sind, kann diese Anlage im analytischen und semipräparativen Maßstab dimensioniert sein. Analytische und semipräparative Anlagen sind in der Anschaffung und im Betrieb wesentlich kostengünstiger als die bisher üblichen präparativen Anlagen. Durch den geringeren Lösungsmittel- und Puffersubstanzenverbrauch ist das erfindungsgemäße Verfahren und die Vorrichtung aufgrund geringerer Abfallmengen umweltfreundlich.

Die Erfindung wird anhand einer Zeichnung und eines Ausführungsbeispiels näher erläutert.

Es zeigen

Fig. 1 eine schematische Darstellung des Ablaufes des Equilibrierens im ersten Trennschritt und Spülen der Aufgabesäulenbatterie,

Fig. 2 eine schematische Darstellung des Auftrennens eines Substanzgemisches im ersten Trennschritt und Adsorption von Fraktionen an der ersten Aufgabesäulenbatterie,

Fig. 3 eine schematische Darstellung des Auftrennens eines Substanzgemisches im ersten Trennschritt und Adsorption von Fraktionen an der zweiten Aufgabesäulenbatterie,

Fig. 4 eine schematische Darstellung des Auftrennens eines Substanzgemisches im ersten Trennschritt und Adsorption von Fraktionen an der dritten Aufgabesäulenbatterie,

Fig. 5 eine schematische Darstellung der Equilibrierung der Trennsäulenbatterien des zweiten Trennschrittes,

Fig. 6 eine schematische Darstellung einer parallelen Trennung absorbierter Fraktionen im zweiten Trennschritt und

Fig. 7 eine schematische Darstellung des Equilibrierens einer Aufgabesäulenbatterie.

Fig. 1 bis Fig. 7 zeigen beispielhaft den Aufbau und das Ablaufschema einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Trennsäule und drei nachgeordneten Trennlinien.

Eine Pumpeneinheit 2, die aus drei Pumpen 2.1 bis 2.3 besteht, ist über die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.3 sowie dem 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 mit einer Aufgabesäulenbatterie 6, einer Trennsäule 10, für die erste Trennungsstufe und einer zweiten Trennstufe, die aus drei parallel betriebbaren Trennlinien besteht, denen jeweils ein 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.5, 3.6 und 3.7 vorgeordnet ist, verbunden. Damit ist es möglich, die mobile Phase in jeder gewünschten Zusammensetzung nacheinander und parallel in alle Bereiche der Vorrichtung zu transportieren.

Jede Trennlinie weist eine Aufgabesäulenbatterie 7, 8 und 9 und eine Trennsäulenbatterie 11, 12 und 13 auf. Beispielhaft enthält die Aufgabesäulenbatterie 7 die Aufgabesäulen 7.1 bis 7.6 und die Trennsäulenbatterie 11 die Trennsäulen 11.1 und 11.2. Die beiden weiteren dargestellten Trennlinien

sind identisch aufgebaut. Andere Varianten mit mehr Aufgabensäulen 6.1 bis 6.6 der Aufgabensäulenbatterie 6, mehrerer Trennsäulen 10, mehr als drei Auffangssäulenbatterien 7, 8 und 9 mit jeweils mehr als sechs Auffangssäulen und mehr als drei Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 mit mehr als sechs Trennsäulen pro Batterie sind möglich.

Im folgenden wird der Ablauf des erfindungsgemäßen Verfahrens beispielhaft beschrieben. Substanzgemischproben werden jeweils in einem Lösungsmittel gelöst und mit einem Adsorbenten versetzt.

Anschließend wird das Lösungsmittel mittels eines Rotationsverdampfers entfernt, damit die mit Probenmaterial belegten Adsorbenten rieselfähige Eigenschaften erreichen. Die mit dem Substanzgemisch belegten Adsorbenten werden in die Aufgabensäulen 6.1 bis 6.6 der Aufgabensäulenbatterie 6 verfüllt und in die Aufgabensäulenbatterie 6 eingebaut. Die nun folgenden Programmablaufschritte werden über eine Software gesteuert.

Gemäß Fig. 1 wird die Trennsäule 10 equilibriert. Parallel dazu wird die Luft aus der Aufgabensäulenbatterie 6 entfernt. Über die Pumpe 2.3, das 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 und über die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.3 wird mit Wasser die Luft aus einer der trocken verfüllten Aufgabensäulen 6.1 bis 6.6 entfernt, die als nächstes injiziert werden soll. Gleichzeitig wird über die Pumpe 2.1, die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.3 die Trennsäule 10 mit einem geeigneten Laufmittel equilibriert.

In Fig. 2 ist das Auftrennen des Substanzgemisches in der ersten Trennstufe an der Trennsäule 10 und die anschließende Adsorption der Fraktionen in einer Trennlinie mit den Auffangssäulen 7.1 bis 7.6 der Auffangssäulenbatterie 7 dargestellt.

Wenn die Luft aus einer der Aufgabensäulen 6.1 bis 6.6 entfernt ist, wird das Trennprogramm gestartet. Zunächst werden die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.3 und 3.5 geschaltet. Über eine Niederdruckventileinheit 1 mit den Niederdruckventilen 1.1 bis 1.3 können die Bestandteile der mobilen Phase mittels der Pumpeneinheit 2 in das System eingegeben werden. Über das Niederdruckventil 1.1 der Pumpe 2.1 und die Pumpe 2.1 wird mobile Phase transportiert, wobei dieses System sowohl isokratisch als auch mit einem Gradienten gefahren werden kann. Über das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.3 und die 7-Wege-6-Positions-Ventile 4.1/4.2 wird die mobile Phase von Pumpe 2.1 auf diejenige Aufgabensäule 6.1 bis 6.6 geführt, von der Probenmaterial bearbeitet werden soll. Von einer der Aufgabensäulen 6.1 bis 6.6 wird die zu trennende Probe auf die Trennsäule 10 überführt. Die aus der Trennsäule 10 austretenden getrennten Probekomponenten gelangen über ein 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.4 und den Detektor 14.1 zu einem T-Stück 17, wo über die Pumpe 2.2 und das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.1 Wasser der mobilen Phase zugemischt wird. Die Menge des zugemischten Wassers richtet sich dabei nach der Polarität der zu trennenden Substanzen. Die durch Wasser erhöhte Polarität der mobilen Phase ermöglicht nun die Adsorption auf den Auffangssäulen 7.1 bis 7.6 der Auffangssäulenbatterie 7. Über das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.5 wird zunächst auf die Auffangssäulenbatterie 7 adsorbiert. Dabei werden nacheinander die Auffangssäulen 7.1 bis 7.6 mit Fraktionen belegt.

In Fig. 3 ist die Adsorption weiterer Fraktionen an den Auffangssäulen 8.1 bis 8.6 der Auffangssäulenbatterie 8 dargestellt. Wenn alle Auffangssäulen der Auffangssäulenbatterie 7 mit Fraktionen belegt sind, schalten die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.5 und 3.6 die Auffangssäulenbatterie 8 in den Eluentenstrom. Nun werden nacheinander die Auffangssäulen 8.1 bis 8.6 mit Fraktionen belegt.

In Fig. 4 ist die Adsorption von Fraktionen an die Auf-

fangssäulen 9.1 bis 9.6 der Auffangssäulenbatterie 9 dargestellt. Wenn alle Auffangssäulen 8.1 bis 8.6 der Auffangssäulenbatterie 8 mit Fraktionen belegt sind, schalten die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.6 und 3.7 die Auffangssäulenbatterie 9 in den Eluentenstrom. Nun werden nacheinander die Auffangssäulen 9.1 bis 9.6 mit Fraktionen belegt. In dem folgenden Ablaufschritt werden parallel die an den drei Auffangssäulenbatterien 7, 8 und 9 adsorbierten Fraktionen eluiert und auf entsprechend zugeordnete Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 weiter aufgetrennt.

Vor jeder Trennung werden die Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 equilibriert. In Fig. 5 ist die Equilibrierung der Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 dargestellt. Zur Equilibrierung wird mobile Phase über die Pumpe 2.1 das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.1 und 3.5 auf die Trennsäulen 11.1 bzw. 11.2 der Trennsäulenbatterie 11 geführt. Von dort wird die mobile Phase über das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.4 den Detektor 14.1 und einem Fraktionssammler 15.1 in den Abfall geführt. Parallel dazu werden die Trennsäulen 12.1 und 12.2 der Trennsäulenbatterie über die Pumpe 2.2 die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.6 sowie einen Detektor 14.2 und Fraktionssammler 15.2 equilibriert. Ebenso werden dazu parallel die Trennsäulen 13.1 und 13.2 über die Pumpe 2.3 das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.7 und das 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 sowie einen Detektor 14.3 und einen Fraktionssammler 15.3 equilibriert.

In Fig. 6 ist die parallele Trennung der an den Auffangssäulenbatterien 7, 8 und 9 adsorbierten Fraktionen auf den Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 dargestellt. Zur Einleitung des Trennschrittes wird mobile Phase über die Pumpe 2.1 der Pumpeneinheit 2 und die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.5 auf die Auffangssäulenbatterie 7 geführt. Die erste eluierte Fraktion aus der Auffangssäulenbatterie 7 (z. B. von Auffangssäule 7.1) wird über das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.5 zur Trennsäulenbatterie 11 geleitet. Dort kann wahlweise softwaregesteuert eine der Trennsäulen 11.1 oder 11.2 zugeschaltet werden. Die getrennten Komponenten werden dann anschließend über die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.5 und 3.4 zum Detektor 14.1 geführt. Die Software in der elektronischen Steuereinheit wertet die Signale mit Hilfe von Peakerkennung aus und lenkt die getrennten Komponenten in die entsprechenden Vials des Fraktionssammlers 15.1. Gleichzeitig ist auch eine Zeitsteuerung des Fraktionssammlers 15.1 möglich.

Diese Zeitsteuerung kann automatisch aktiviert werden, wenn kein Peak den Detektor passiert.

Parallel dazu wird mobile Phase über die Pumpe 2.2 und die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.6 zur Auffangssäulenbatterie 8 gefördert. Die erste eluierte Fraktion aus der Auffangssäulenbatterie 8 (z. B. von der Auffangssäule 8.1) wird über das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.6 zur Trennsäulenbatterie 12 geleitet. Dort kann wahlweise softwaregesteuert eine der Trennsäulen 12.1 oder 12.2 zugeschaltet werden. Die getrennten Komponenten werden zum Detektor 14.2 geführt. Die Software wertet auch hier die Signale mit Hilfe von Peakerkennung aus und lenkt dann die getrennten Komponenten in die entsprechenden Vials des Fraktionssammlers 15.2. Auch dieser Fraktionssammler 15.2 kann zeitgesteuert werden. Diese Zeitsteuerung kann automatisch aktiviert werden, wenn kein Peak den Detektor passiert.

Parallel zu den Abläufen in zwei Trennlinien wird die dritte Trennlinie hinsichtlich der Einleitung des Trennschrittes aktiviert. Dazu wird die mobile Phase über Pumpe 2.3 sowie das 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 und das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.7 zur Auffangssäulenbatterie 9 gefördert. Die erste eluierte Fraktion aus der Auffangssäulenbatterie 9 (z. B. von der Auffangssäule 9.1) wird über das Ventil 3.7 zur Trennsäulenbatterie 13 geleitet. Dort kann

wahlweise softwaregesteuert eine der Trennsäulen 13.1 oder 13.2 zugeschaltet werden. Die getrennten Komponenten werden zum Detektor 14.3 geführt. Die Steuerung des sich anschließenden Fraktionssammlers 15.3 erfolgt wie bereits beschrieben. Nachdem die jeweils ersten Fraktionen parallel bearbeitet worden sind, erfolgt zur Vorbereitung und der Trennung der nächsten Fraktionen erneut Equilibrierung der Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 (vgl. Fig. 5). Anschließend schalten die 7-Wege-6-Positions-Ventile 4.3/4.4, 4.5/4.6 und 4.7/4.8 an den Auffangssäulenbatterien 7, 8 und 9 weiter, so daß nun die zweiten Fraktionen bearbeitet werden können, wie in Fig. 6 dargestellt. Diese Vorgänge setzen sich solange fort bis alle Fraktionen bearbeitet worden sind.

Fig. 7 stellt das Equilibrieren der Auffangssäulen 7.1 bis 7.6 der Auffangssäulenbatterie 7 dar. In diesem Programmablaufschritt werden die Auffangssäulen 7.1 bis 7.6 mit Wasser gespült und so für den nächsten Lauf vorbereitet. Dies erfolgt sequentiell über die Pumpe 2.2, die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1, 3.5, 3.6, 3.7 sowie die 7-Wege-6-Positions-Ventile 4.3/4.4 der Auffangssäulenbatterie 7. Das Equilibrieren der Auffangssäulenbatterien 8 und 9 erfolgt analog. Die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.5 und 3.6 werden geschaltet und über die Pumpe 2.2 die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1, 3.5, 3.6, 3.7 sowie die 7-Wege-6-Positionsventile 4.5/4.6 der Auffangssäulenbatterie 8 erfolgt das Equilibrieren der Auffangssäulen 8.1 bis 8.6. Anschließend werden die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.6 und 3.7 geschaltet und über die Pumpe 2.2 die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1, 3.5, 3.6, 3.7 sowie die 7-Wege-6-Positionsventile 4.7/4.8 der Auffangssäulenbatterie 9 erfolgt das Equilibrieren der Auffangssäulen 9.1 bis 9.6. Nach diesem Programmablauf werden die 7-Wege-6-Positions-Ventile 4.1/4.2 der Aufgabebatterie 6 auf die nächste Aufgabensäule (z. B. 6.2) geschaltet und der gesamte Programmablauf beginnt von vorn.

(Ablaufschritt 1: Equilibrieren der Trennsäule 10 und Entlüften der Aufgabensäule 6.2, dargestellt in Fig. 1 usw.).

Nach Bearbeitung dieser zweiten Probe kann die folgende Aufgabensäule 6.3 in den Eluentenstrom geschaltet werden. Da bereits abgearbeitete Probeaufgabensäulen jederzeit durch neue ersetzt werden können, ist ein kontinuierlicher Betrieb mit einer unbegrenzten Anzahl von Proben möglich.

Während des ersten und zweiten Trennschrittes werden über die Detektoren 14.1, 14.2 und 14.3 Chromatogramme, Retentionsdaten und Spektren gesammelt, direkt in einem Rechner verarbeitet und mit den Daten bekannter Substanzen verglichen. Somit lassen sich bereits online bekannte Substanzen identifizieren und aussortieren. Im Zweifelsfall können noch weitere Daten, die offline nach Trennung und Isolierung gewonnen werden, zur Identifikation herangezogen werden.

Bezugszeichenliste

1 Niederdruckventileinheit

1.1 Niederdruckventil

1.2 Niederdruckventil

1.3 Niederdruckventil

2 Pumpeneinheit

2.1 Pumpe

2.2 Pumpe

2.3 Pumpe

3 6-Wege-2-Positions-Ventil

3.1 6-Wege-2-Positions-Ventil

3.3 6-Wege-2-Positions-Ventil

3.4 6-Wege-2-Positions-Ventil

3.5 6-Wege-2-Positions-Ventil

3.6 6-Wege-2-Positions-Ventil

3.7 6-Wege-2-Positions-Ventil

4 7-Wege-6-Positions-Ventil

4.1 7-Wege-6-Positions-Ventil

4.2 7-Wege-6-Positions-Ventil

4.3 7-Wege-6-Positions-Ventil

5 4.4 7-Wege-6-Positions-Ventil

4.5 7-Wege-6-Positions-Ventil

4.6 7-Wege-6-Positions-Ventil

4.7 7-Wege-6-Positions-Ventil

4.8 7-Wege-6-Positions-Ventil

10 5 3-Wege-2-Positions-Ventil

5.1 3-Wege-2-Positions-Ventil

5.2 3-Wege-2-Positions-Ventil

5.3 3-Wege-2-Positions-Ventil

5.4 3-Wege-2-Positions-Ventil

15 5.5 3-Wege-2-Positions-Ventil

5.6 3-Wege-2-Positions-Ventil

5.7 3-Wege-2-Positions-Ventil

6 Aufgabensäulenbatterie

7.1 Aufgabensäule

20 7.2 Aufgabensäule

7.3 Aufgabensäule

7.4 Aufgabensäule

7.5 Aufgabensäule

7.6 Aufgabensäule

25 7 Aufgabensäulenbatterie

7.1 Aufgabensäule

7.2 Aufgabensäule

7.3 Aufgabensäule

7.4 Aufgabensäule

30 7.5 Aufgabensäule

7.6 Aufgabensäule

8 Aufgabensäulenbatterie

8.1 Aufgabensäule

8.2 Aufgabensäule

35 8.3 Aufgabensäule

8.4 Aufgabensäule

8.5 Aufgabensäule

8.6 Aufgabensäule

9 Aufgabensäulenbatterie

40 9.1 Aufgabensäulen

9.1 Aufgabensäulen

9.2 Aufgabensäulen

9.3 Aufgabensäulen

9.4 Aufgabensäulen

45 9.5 Aufgabensäulen

9.6 Aufgabensäulen

10 Trennsäule

11 Trennsäulenbatterie

11.1 Trennsäule

50 11.2 Trennsäule

12 Trennsäulenbatterie

12.1 Trennsäule

12.2 Trennsäule

13 Trennsäulenbatterie

55 13.1 Trennsäule

13.2 Trennsäule

14 Detektoren

14.1 Detektor

14.2 Detektor

60 14.3 Detektor

15 Fraktionssammler

15.1 Fraktionssammler

15.2 Fraktionssammler

15.3 Fraktionssammler

65 16 Abfall

16.1 Abfall

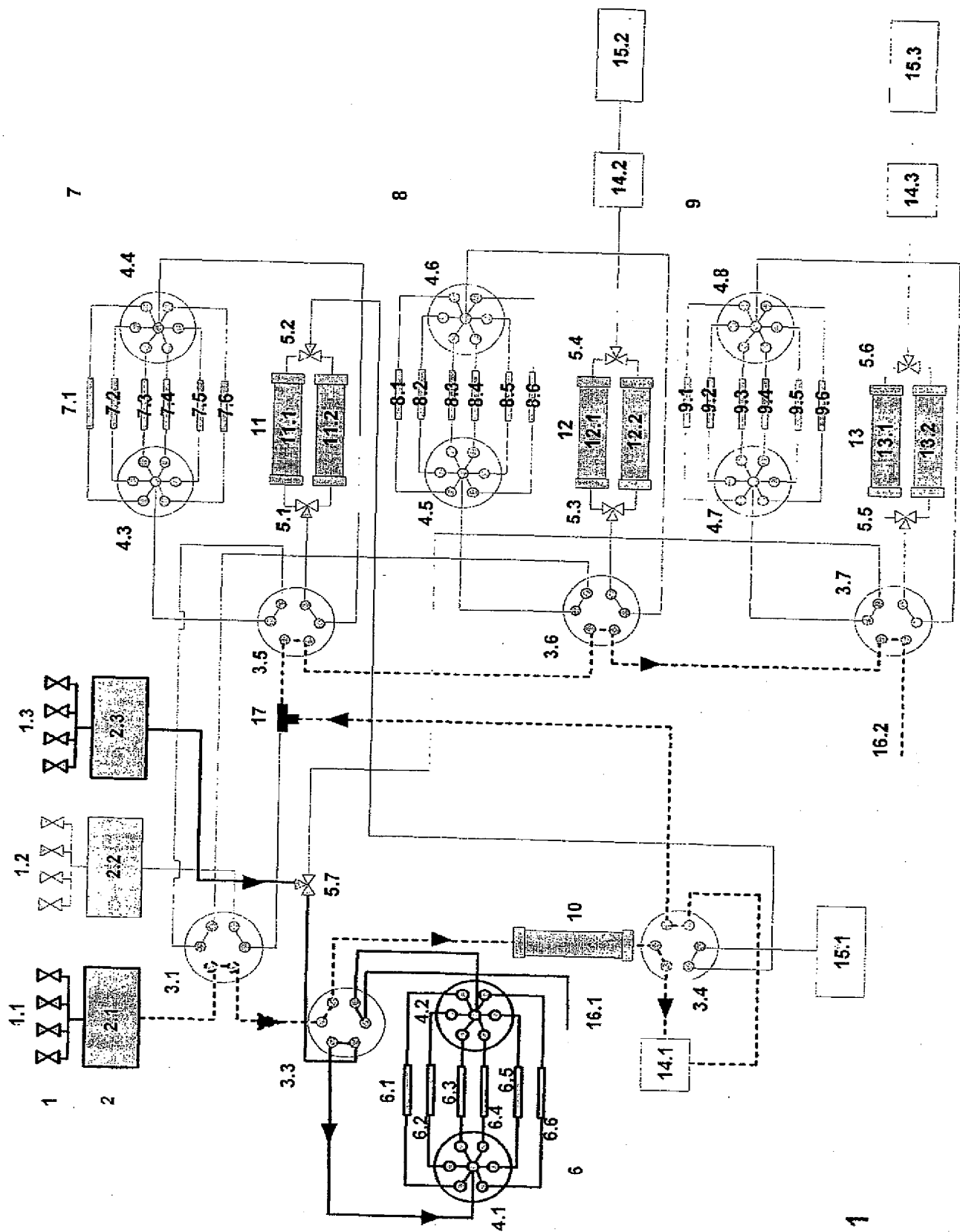
16.2 Abfall

17 T-Stück

Patentansprüche

1. Verfahren zur schnellen flüssigchromatographischen Trennung und Identifizierung von Substanzen, **dadurch gekennzeichnet**, daß Substanzgemische in einer softwaregesteuerten schnellen flüssigchromatographischen Zweistufentrennung in der ersten Stufe vorgetrennt und in der zweiten Stufe die vorgetrennten und in Auffangssäulen abgelegten Fraktionen in mindestens zwei Trennlinien parallel fein aufgetrennt, die fein aufgetrennten Fraktionen parallel identifiziert und parallel isoliert werden. 5
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in der ersten Trennstufe die Vortrennung von Substanzgemischen nacheinander und in der zweiten Stufe die Feintrennung nacheinander und/oder parallel erfolgt. 10
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens ein Detektor (14.1) sowohl nach der ersten Trennstufe als auch nach der zweiten Trennstufe genutzt wird. 15
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die in den Trennlinien aufgetrennten und isolierten Substanzen einer weiteren Reinigungsprozedur insbesondere einer adsorptiven Reinigung unterzogen werden. 20
5. Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatischen Trennung und Identifikation von Substanzen bestehend aus mehreren Trenn- und Auffangssäulen sowie Aufgabesystemen Detektoren- und Fraktionssammler, deren Zusammenwirken über eine zentrale Steuereinheit steuerbar ist, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens einer Trennsäule (10) mehrere parallele flüssigchromatographische Trennlinien, bestehend aus je einer Kombination von Trennsäulenbatterien (11, 12, 13) mit Auf- 25
fangssäulenbatterien (7, 8, 9), Detektoreinheiten (14) und Fraktioniersammlereinheiten (15), nachgeordnet sind, daß eine Pumpeneinheit (2) bestehend aus drei Pumpen (2.1, 2.2, 2.3) zur Förderung der mobilen Phase sowohl mit der Trennsäule (10) als auch mit den Trennlinien funktionell verbunden ist und daß softwaremäßig schaltbare Mehrwegeventile zwischen den einzelnen Funktionseinheiten angeordnet sind. 30
6. Vorrichtung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß vor jeder Trennlinie je ein Mehrwegeventil (3.5, 3.6, 3.7) angeordnet ist. 35
7. Vorrichtung nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß den Trennlinien nachgeschaltet weitere Auffangssäulen angeordnet sind. 40

Hierzu 7 Seite(n) Zeichnungen



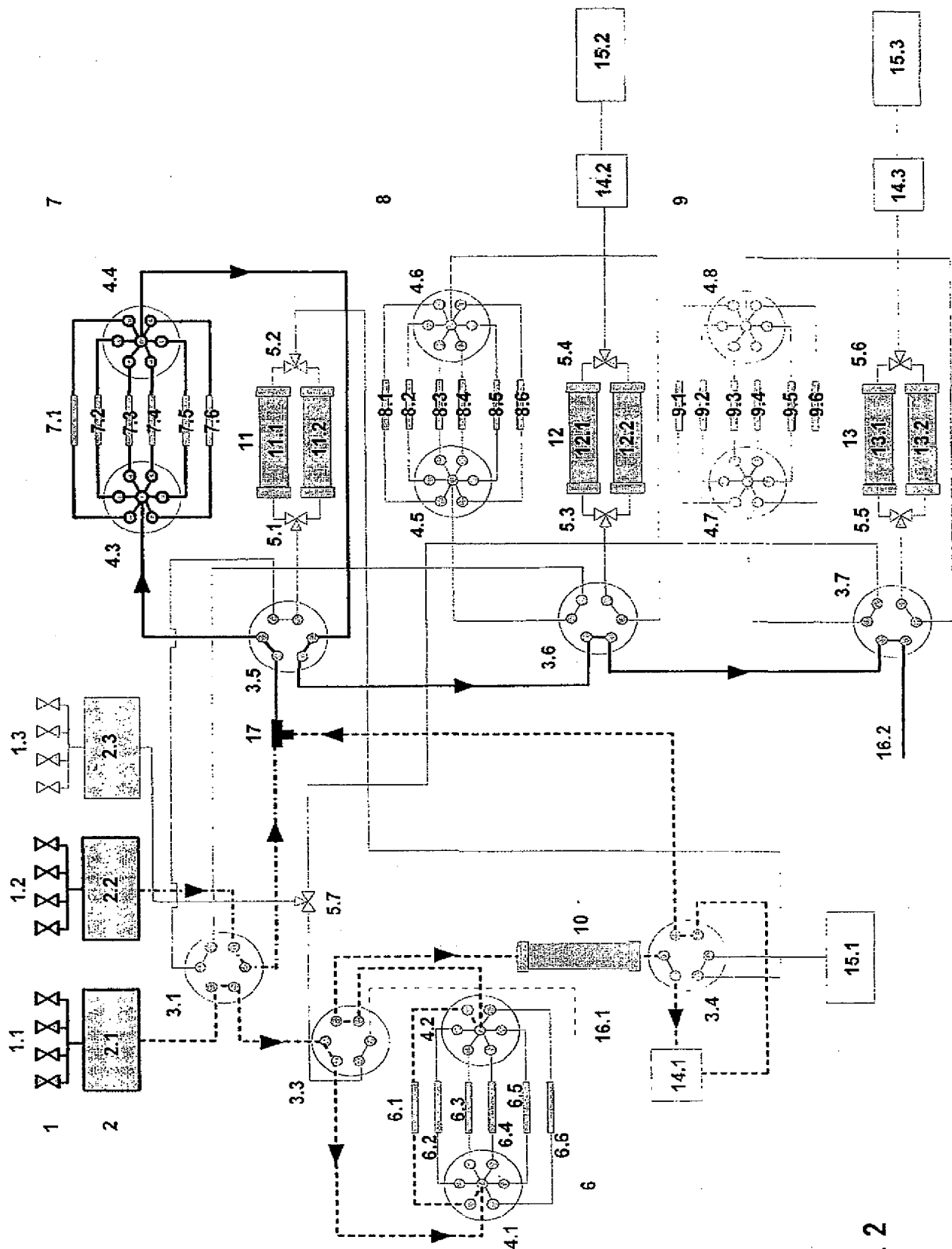


Fig. 2

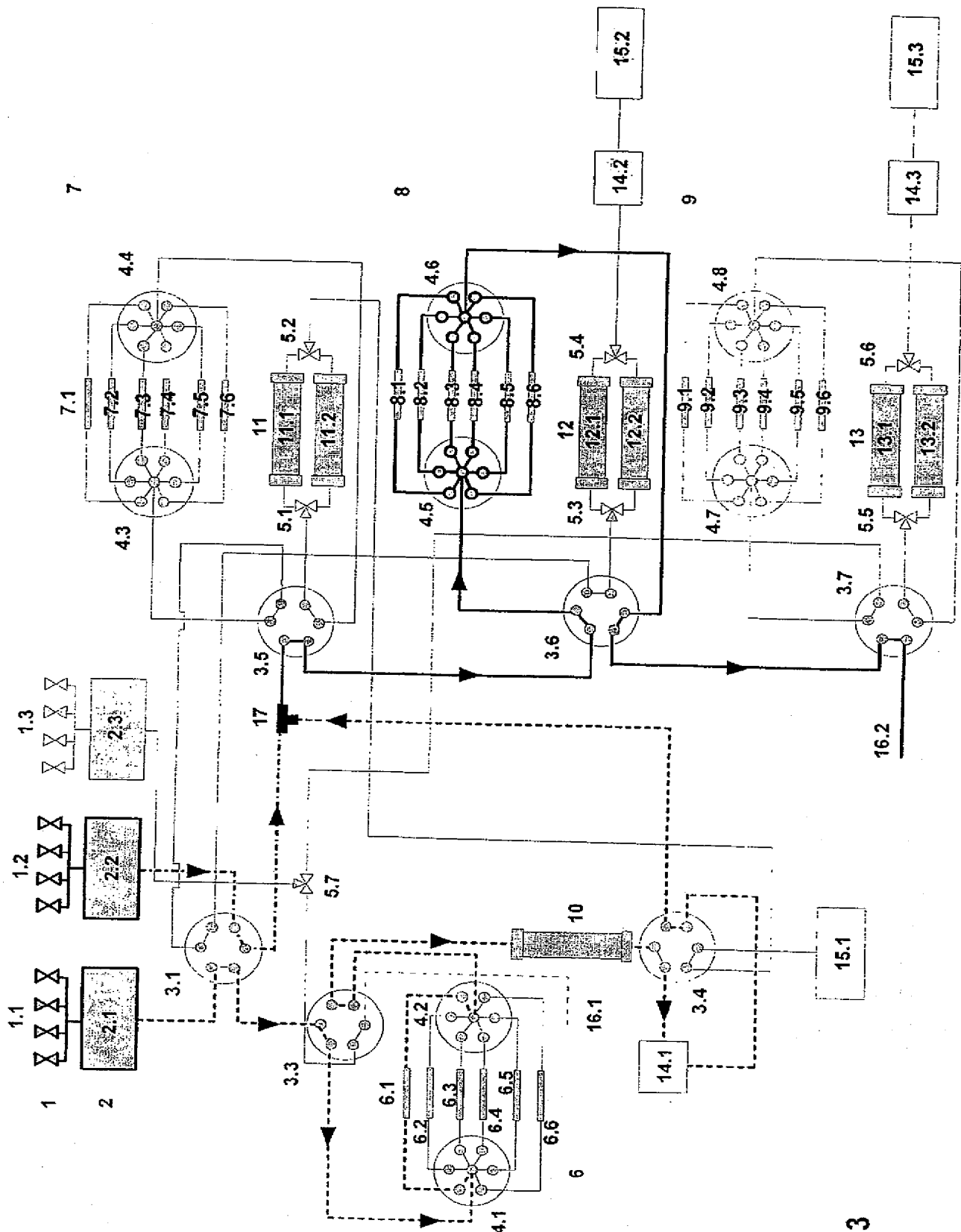


Fig. 3

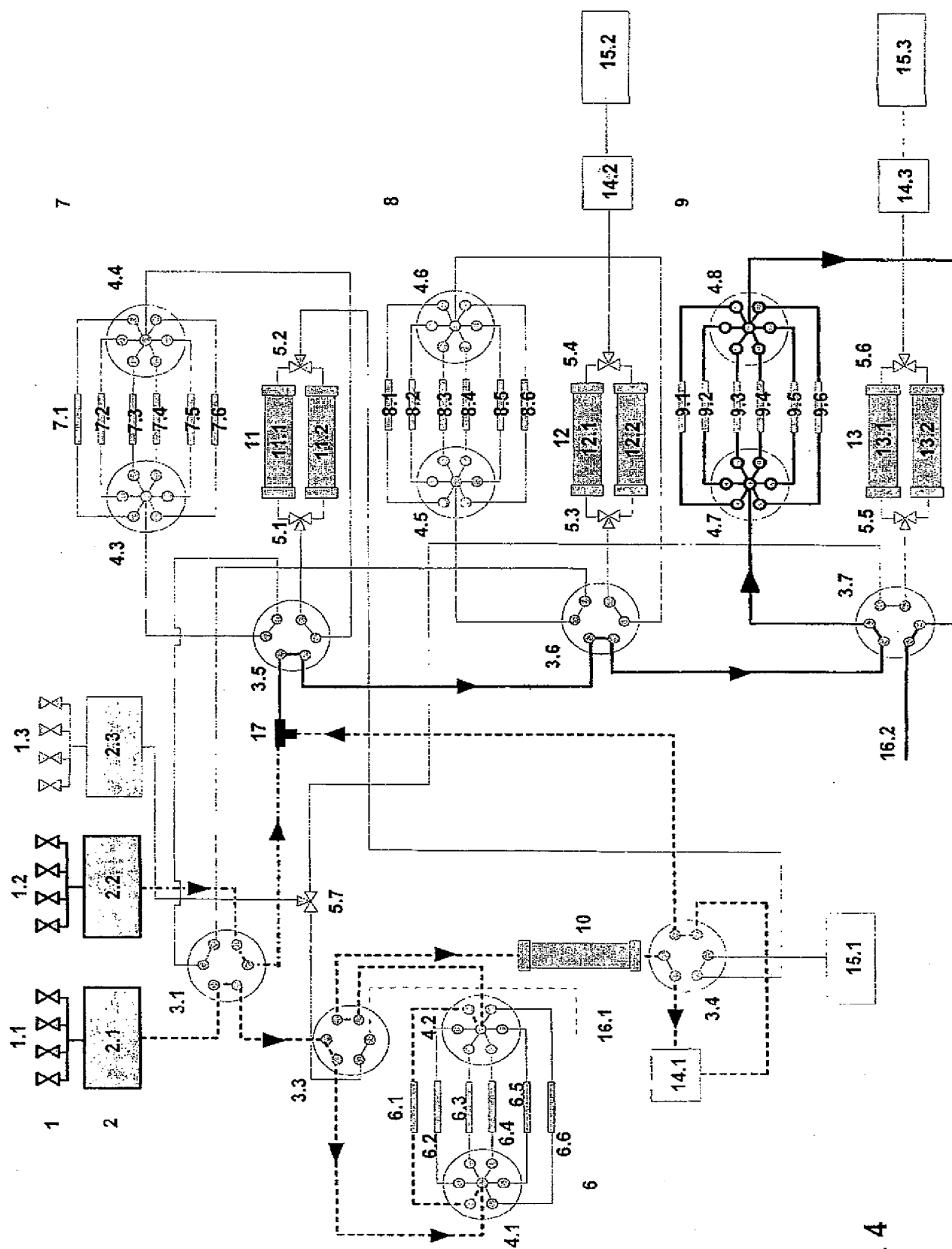


Fig. 4

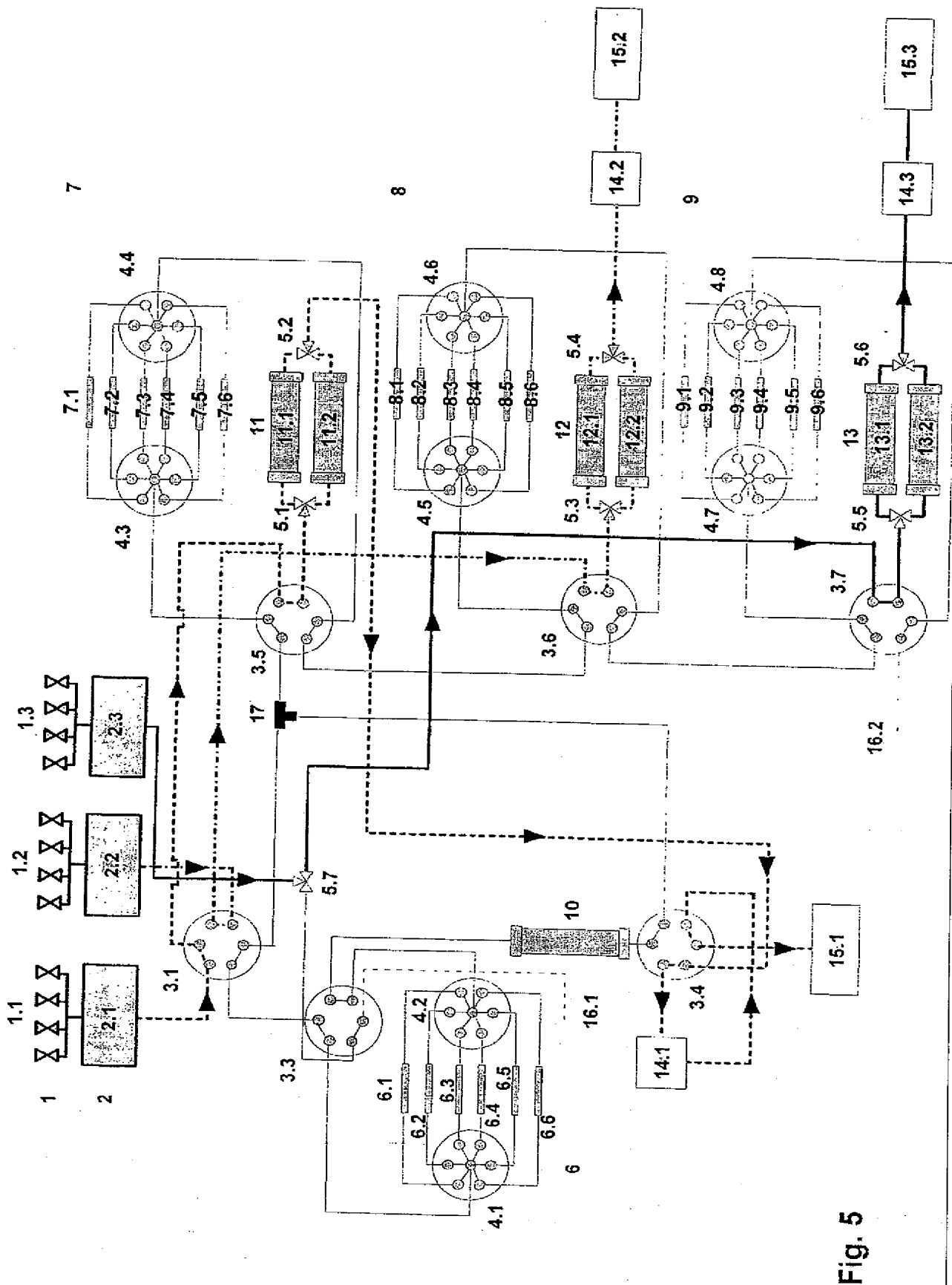


Fig. 5

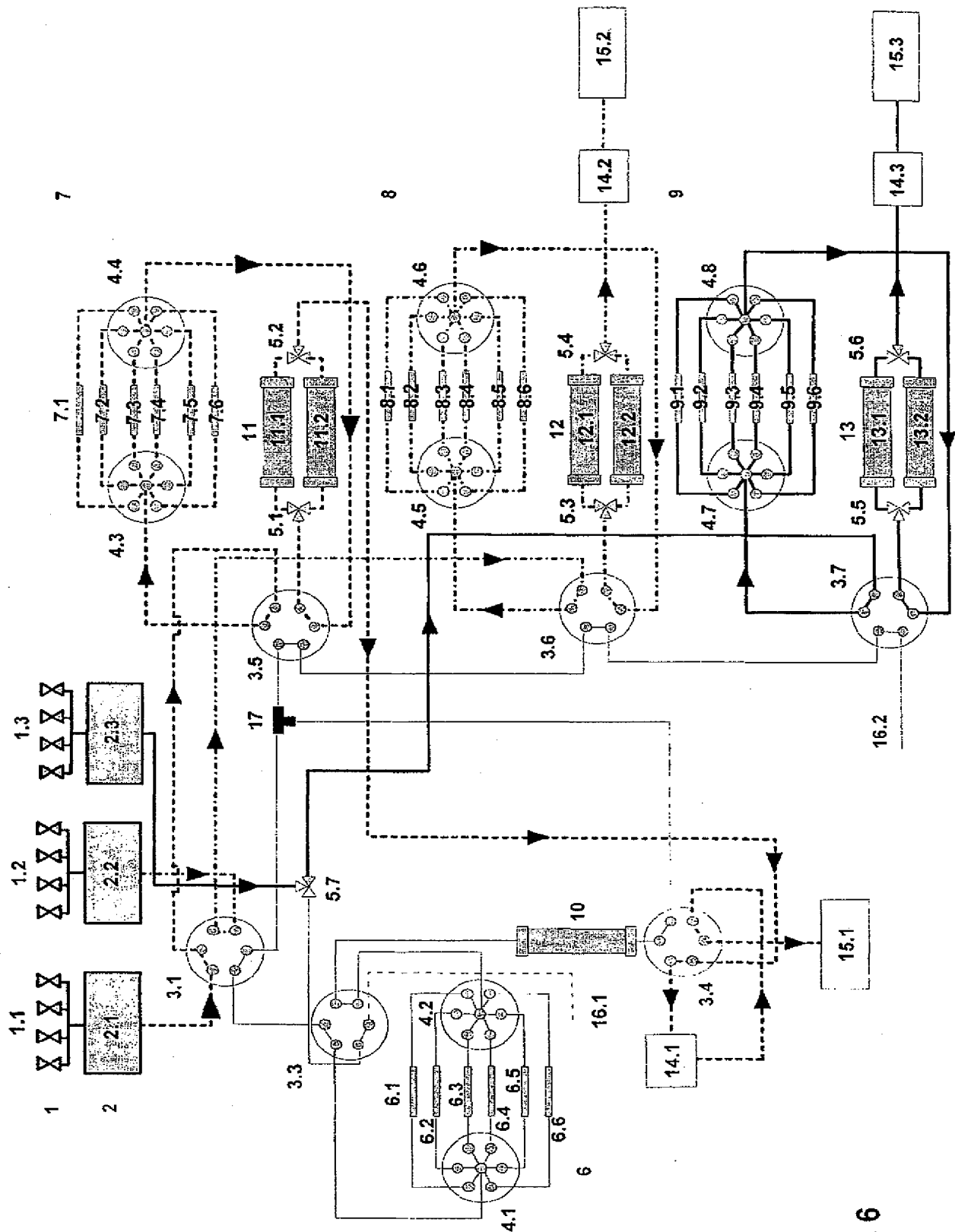


Fig. 6

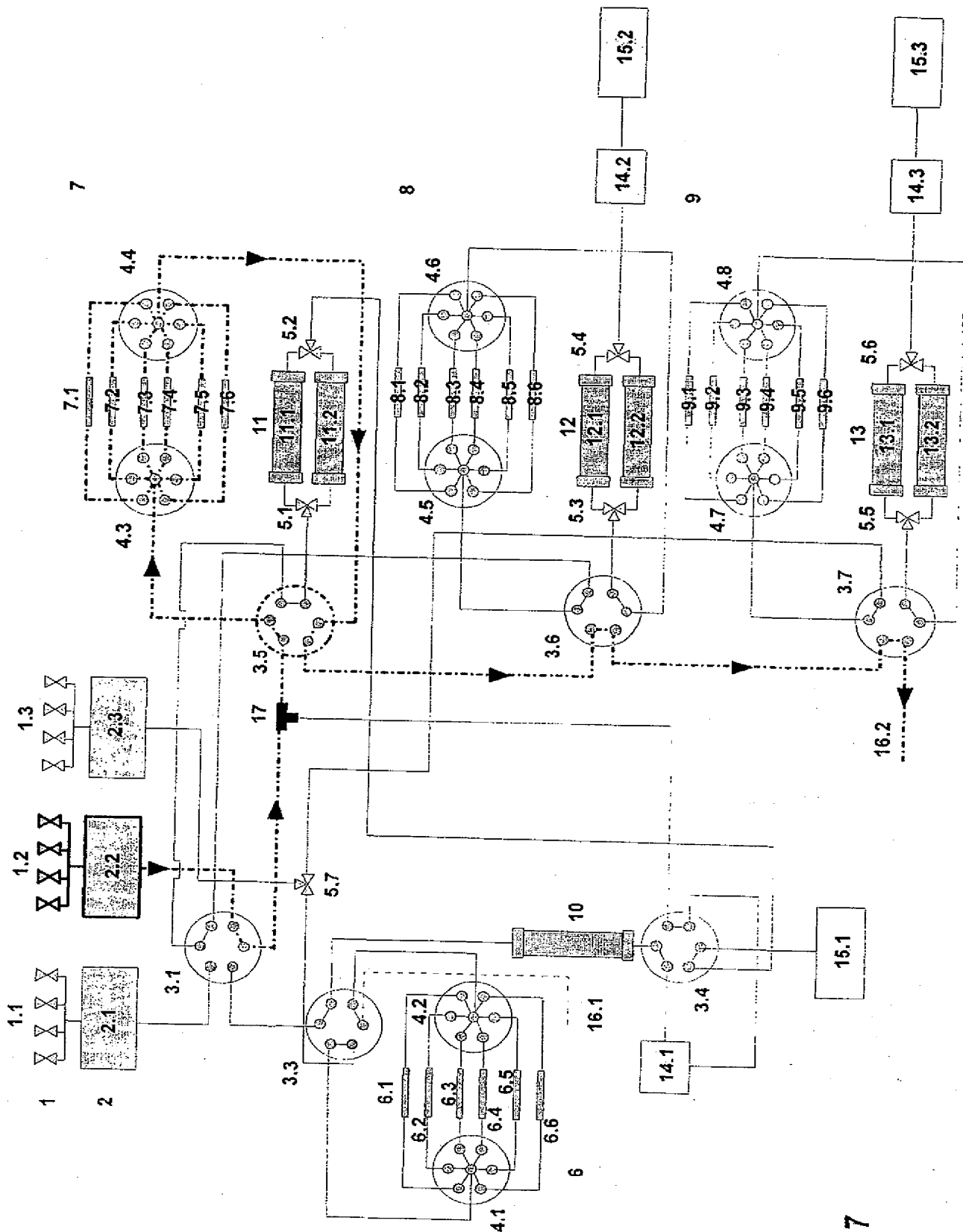


Fig. 7